



Warszawa, dn. 30 października 2023 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Arkadiusza Nowickiego pt. „Wykorzystanie chromatografii cienkowarstwowej do wyznaczania lipofilowości wybranych związków” wykonanej pod kierunkiem i opieką dra hab. Roberta Zakrzewskiego, prof. UŁ jako promotora

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska mgr Arkadiusza Nowickiego powstała w Katedrze Chemii Środowiska Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego. Niniejszą recenzję wykonałam na prośbę Dziekan Wydziału Chemii Uniwersytetu Łódzkiego - prof. dr hab. Sławomiry Skrzypek.

Wiek XIX przyniósł znaczny postęp w rozwoju metod syntezy, dzięki czemu możliwe było otrzymywanie wielu związków aktywnych farmakologicznie, wprowadzanych następnie do lecznictwa. Zaczęło pojawiać się zainteresowanie projektowaniem substancji aktywnych, a tym samym zaczęto ujawniać wyniki badań o tej tematyce. Projektowanie nowych substancji leczniczych o działaniu podobnym do już istniejących farmaceutyków polegało wyłącznie na syntezie związków o podobnej strukturze. Wiadomo, że działanie farmakologiczne zależy od wielu czynników fizycznych i chemicznych związanych bezpośrednio ze strukturą związku. Dzisiejszy rozwój metod syntezy organicznej daje praktycznie nieograniczone możliwości otrzymania struktur chemicznych obdarzonych określonym działaniem farmakologicznym. Obecnie projektowanie substancji aktywnych oprócz samej struktury obejmują również badania chemiczne i fizykochemiczne. Rozwój technologii sprawia, że firmy i koncerny prześcigają się w zastępowaniu starych oraz odkrywaniu coraz to nowych substancji leczniczych. W nowoczesnej chemii medycznej komputery stanowią niezbędne narzędzie zarówno w projektowaniu, jak i wdrażaniu nowych farmaceutyków. Operacje, które składają się na modelowanie cząsteczkowe, przeprowadzane są za pomocą programów lub algorytmów obliczających dane dotyczące struktury i właściwości cząsteczki. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie niezbędnych informacji na temat konformacji, ładunku, momentu dipolowego, ciepła tworzenia, a przede wszystkim możliwość symulowania reakcji i analizy chemicznej. W etapie końcowym wprowadza się projektowanie struktury substancji leczniczych pod względem fizykochemicznym metodami obliczeniowymi, wykorzystując modele matematyczne. W recenzowanej pracy zarówno metodami eksperymentalnymi oraz wykorzystując metody obliczeniowe wyznaczono

lipofilowość 20 nowo zsyntezowanych substancji, których wspólną cechą jest posiadanie pierścienia tiazolidynowego.

Dysertacja mgr inż. Arkadiusza Nowickiego została wydana w formie książkowej i liczy 121 stron. Rozprawa ma układ klasyczny dla prac eksperymentalnych i zawiera część teoretyczną/literaturową, doświadczalną oraz podsumowanie i wnioski. Na początku opracowania znajduje się spis skrótów, akronimów i jednostek, a na końcu rozprawy zamieszczono wykaz odnośników literaturowych, spis tabel, wykresów i rysunków oraz streszczenia w języku angielskim. Proporcje pomiędzy zagadnieniami o charakterze podstawowym a opisem badań własnych Autora są właściwe. Praca została odpowiednio zaplanowana, poszczególne rozdziały stanowią logiczną całość. Recenzowana rozprawa napisana jest poprawnie pod względem językowym i posiada staranną szatę graficzną,

Cel pracy i hipoteza badawcza, które Autor umieścił przed częścią teoretyczną, zostały zwięźle określone, w sposób umożliwiający czytelnikowi weryfikację osiągnięcia. Nakreślone przez Doktoranta obszary badań niezbędnych do realizacji założonego celu pracy i weryfikacji przyjętej hipotezy badawczej wyraźnie wyznaczają i uzasadniają zakres tematyczny zagadnień ujętych w części teoretycznej rozprawy doktorskiej.

Część teoretyczna zajmuje 35 stron, jest zilustrowana 11 rysunkami i została podzielona na pięć rozdziałów, opisuje: pojęcie lipofilowości wraz z doświadczalnymi oraz obliczeniowymi metodami jej wyznaczania, właściwości chemiczne

i fizykochemiczne związków biologicznie aktywnych oraz charakteryzują tiazolidynę

i rodaninę wraz z syntezą badanych związków. Zawiera ona szczegółowe omówienie najważniejszych zagadnień stanowiących przedmiot badań niniejszej dysertacji.

W pierwszym rozdziale Autor definiuje pojęcie lipofilowości. Miarą lipofilowości substancji leczniczych i wskaźnikiem ich zdolności do przekraczania błon

komórkowych jest współczynnik podziału definiowany jako stosunek niezjonizowanej substancji aktywnej rozprowadzonej między fazą organiczną i wodną w stanie równowagi. W przypadku serii związków współczynnik podziału może stanowić empiryczny uchwyt w badaniach przesiewowych pod kątem niektórych właściwości biologicznych. W przypadku dostarczania substancji leczniczych wykazuje się, że równowaga lipofilowo-hydrofilowa jest czynnikiem wpływającym na szybkość i zakres wchłaniania leku. Chociaż same dane dotyczące współczynnika podziału nie zapewniają zrozumienia wchłaniania' in

vivo, zapewniają one sposób scharakteryzowania lipofilowej/hydrofilowej natury substancji „aktywnej, Ponieważ błony biologiczne mają charakter lipoidalny, szybkość transferu substancji aktywnej w przypadku leków wchłanianych biernie jest bezpośrednio związana z lipofilowością cząsteczki. Współczynnik podziału jest zwykle określany przy użyciu fazy organicznej i wodnej. Substancję lecznicze o wartościach współczynników podziału znacznie większych niż 1 są klasyfikowane jako lipofilowe, podczas gdy te o współczynnikach podziału znacznie mniejszych niż 1 wskazują na lek hydrofilowy. Chociaż wydaje się, że współczynnik podziału może być najlepszym predyktorem szybkości wchłaniania, nie należy lekceważyć wpływu szybkości rozpuszczania, stałych kwasowości i rozpuszczalności na wchłanianie.

W rozdziale drugim i trzecim części teoretycznej scharakteryzowane zostały doświadczalne oraz obliczeniowe metody wyznaczania lipofilowości. Metody doświadczalne zostały podzielone na dwie główne grupy, tzn. metody bezpośrednie i pośrednie. Rysunek 2 ze str. 14 to schematyczne pokazanie podziału technik analitycznych (ekstrakcyjnych, separacyjnych, elektroanalitycznych) wykorzystywanych do określenia lipofilowości. Dość szczegółowo zostały opisane techniki ekstrakcyjne oraz chromatograficzne, co sugeruje, że będą one wykorzystane w części eksperymentalnej pracy. Wśród klasycznych metod ekstrakcyjnych wyróżniono metodę powolnego mieszania, metodę mikroekstrakcji ciecz-ciecz z wykorzystaniem wrotkusu oraz metody oparte na dializie oraz na nanoabsoorbentach.

Opisując te metody Autor skupił się na metodyce pomiarów, niestety pominięto opis warunków prowadzenia pomiarów, tzn. nie określono, co może mieć wpływ na zmianę wartości współczynnika podziału. Pominięto istotny wpływ temperatury oraz nie podano sposobów osiągnięcia stanu równowagi.

Wśród metod chromatograficznych wykorzystywanych do oznaczenia lipofilowości

Autor opisał wysokosprawną chromatografię cieczową w odwróconym układzie faz, oraz jej kilka odmian, takich jak: chromatografia przeciwpądowa, immobilizowanych liposomów, z unieruchomioną sztuczną membraną, micelarna chromatografia cieczowa. Tabela 1 (str. 23-24) oraz Tabela 2 (str. 27-29) poprzez określenie fazy stacjonarnej i parametrów fazy ruchomej dla konkretnych analitów zawierają cenne zestawienie do wyznaczania lipofilowości z wykorzystaniem chromatografii cieczowej oraz cienkowarstwowej.

Kolejny rozdział części teoretycznej został poświęcony teoretycznym metodom wyznaczania lipofilowości z wykorzystaniem technik komputerowych. W Tabeli 3 (str. 31) zestawiono listę użytych w pracy programów do obliczenia wartości współczynników podziału wraz z metodologią ich obliczenia. Niestety w rozdziale tym zabrakło mi wyjaśnienia dlaczego z szerokiej gamy metod obliczeniowych postawiono właśnie na metody przewidywania oraz przybliżeń lipofilowości na podstawie struktury związku. Nie do końca trafny jest również używany przez Autora zwrot „metody komputerowe”. Istnieją metody kowalencyjne, obliczenia kwantowe, przewidywania itp.

Kolejny obszerny rozdział części teoretycznej (rozdział 4) dotyczy opisu właściwości chemicznych i fizykochemicznych związków biologicznie aktywnych. Autor rozprawy nie ogranicza się jedynie do rozważania na temat współczynnika podziału, ale wspomina o znaczeniu masy cząsteczkowej substancji leczniczych, liczbie donorów i akceptorów wiązania wodorowego, całkowitej powierzchni polarnej, całkowitej liczbie wiązań rotacyjnych oraz objętości molekularnej. Znalezienie związku chemicznego, który selektywnie, we właściwej lokalizacji i z odpowiednią siłą ulegnie przyłączeniu do miejsca aktywnego obranego celu molekularnego, w taki sposób żeby wywołać pożądany efekt terapeutyczny, przy dodatkowym warunku opłacalności ekonomicznej procesu otrzymywania jest zadaniem niezwykle absorbującym. Jednocześnie stale rosnąca liczba poznanych patogenów i zespołów chorobowych obliuguje do nieustannych poszukiwań w tym zakresie i zmusza do opracowywania procesów pozwalających na pozyskiwanie środków leczniczych. Istotne staje się wykonanie

stosunkowo prostych analiz pozwalających na wczesnym etapie procesu wyboru i wdrażania substancji czynnej farmaceutycznie wykazać czy badana substancja oprócz domniemywanej aktywności biologicznej, spełnia kryteria biodostępności. Doskonałe do tego celu są badania chemiczne i fizykochemiczne opisane przez

Doktoranta. Spowodowane jest to nierozzerwalnym związkiem między wartościami parametrów fizykochemicznych a dostępnością i aktywnością biologiczną substancji chemicznych. Znajomość takich właściwości substancji jak jej masa cząsteczkowa, współczynnik podziału czy objętość molekularna pozwala na modelowanie kinetyki oraz przewidzenie miejsca w organizmie, gdzie dojdzie do uwolnienia i wchłonięcia wprowadzonej do ustroju substancji leczniczej. Parametry te dostarczają również informacji o sposobie, w jakim ulegnie ona rozłokowaniu, metabolizmowi oraz ostatecznie wydaleniu. Część teoretyczną kończy rozdział charakteryzujący

tiazolidynę oraz jej pochodną -rodaninę. Opis tych heterocyklicznych związków chemicznych podyktowany został faktem, że struktura wszystkich badanych substancji oparta była na pierścieniu tiazolidynowym.

Podstawy teoretyczne zawarte w rozdziałach 1-5 zostały opracowane w sposób zwięzły i czytelny. A informacje w nich zawarte są właściwie dobrane dzięki czemu stanowią bardzo dobry fundament do części doświadczalnej.

Część doświadczalna na kolejnych 42 stron zawiera zarówno opis badanych związków, podstawy stosowanych technik pomiarowych, jak i metodologię prowadzenia prac badawczych. Zestawione w Tabelach 6 i 7 struktury chemiczne badanych pochodnych w jasny i czytelny sposób pokazują różnicę badanych związków. W tej części pracy Autor opisuje także wykorzystaną aparaturę wraz z opisem procedur eksperymentalnych, a także metodykę przygotowania próbek i stanowisk badawczych do poszczególnych typów eksperymentów. Zarówno dobór, jak i opis stosowanych metod badawczych jest poprawny, co umożliwiło Doktorantowi realizację poszczególnych zadań badawczych oraz weryfikację założonej hipotezy badawczej.

Zasadniczą częścią rozprawy jest „Podsumowanie i Wnioski” omówione na 9 stronach i uzupełnione 11 wykresami, gdzie Doktorant zwięźle przedstawia najważniejsze osiągnięcia uzyskane w wyniku wykonanych badań.

Recenzowana rozprawa zawiera obszerny materiał badawczy skoncentrowany na ocenie lipofilowości wybranych grup związków analizowanych doświadczalnie

z wykorzystaniem chromatografii cienkowsarstwowej w odwróconym układzie faz.

Za szczególnie interesujące należy uznać porównanie badań eksperymentalnych z danymi obliczonymi przy użyciu technik komputerowych.

Podsumowując lekturę rozprawy mgr Arkadiusza Nowickiego stwierdzam, że

zarówno dobrze zaplanowane badania, jak i prawidłowo przeprowadzone eksperymenty pozwoliły Doktorantowi uzyskać szereg wartościowych wyników, które zostały zinterpretowane w oparciu o wiedzę i doświadczenie badawcze Autora. Przedstawione w rozprawie wyniki badań oraz ich dyskusja pokazują, że założony cel pracy został osiągnięty.

Lektura treści zawartych w rozprawie skłania jeszcze do kilku spostrzeżeń:

- (1) Opisana w rozdziale 5 .części teoretycznej synteza badanych związków (str. 42-45) wg mnie powinna zostać opisana w części doświadczalnej.
- (2) W opisie syntez analizowanych związków zabrakło mi potwierdzenia czystości otrzymanych pochodnych.
- (3) Zsyntetyzowane substancję zostały podzielone na dwie grupy: 8 pochodnych 2tiokso-1,3-tiazolidyn-4-onu oraz 12 pochodnych kwasu 5-pirydylometylideno3-rodaninokarboksyłowego, brakuje jednak wyjaśnienia dlaczego postawiono na takie modyfikację związków. Jakim kryterium kierował się Autor wybierając te związki do badań, co chciał w ten sposób porównać i udowodnić?
- (4) Bardzo ubogi Rozdział 1 części doświadczalnej, w którym Autor w jednym z podrozdziałów wymienia jedynie wykorzystane podczas prac eksperymentalne odczynniki. Nie podaje czystości związku, numeru katalogowego lub CAS, sposobu przechowywania itp.
- (5) W rozdziale „Bibliografia” (str. 100-112), liczącym 126 pozycji, Pan mgr Arkadiusz Nowicki cytuje niektóre z własnych prac. Jednak, w dysertacji zabrakło pełnego wykazu publikacji oraz spisu dorobku naukowego Autora.

W pracy nie znajduje usterek, które merytorycznie obniżyłyby jej wartość. Dysertacja jest bardzo spójna tematycznie, choć porusza wiele wątków badawczych. Doktorat mgr Arkadiusza Nowickiego stanowi zamkniętą logicznie całość. Z drugiej strony otwiera nowe -pytania naukowe, co uznaję za kolejną zaletę. Praca jest napisana poprawnym językiem polskim w sposób czytelny i zrozumiały, co jest godne docenienia. Pojawiające się błędy edytorskie i interpunkcyjne są zrozumiałe przy tak dużej objętości i nie utrudniają odbioru pracy. Na uznanie zasługuje wzorowa oprawa graficzna przygotowana przez Autora. Każdy rysunek został indywidualnie opracowany, na wykresach linia jest wyraźna, kolorystyka spójna, rysunki są czytelne i przycięte do odpowiednich rozmiarów. Wszystko to wspomaga przekazywanie informacji i znakomicie uzupełnia tekst.

Podsumowując pragnę stwierdzić, że Pan mgr Arkadiusz Nowicki w ramach pracy doktorskiej zajmował się bardzo ciekawą tematyką wymagającą szerokiej wiedzy, umiejętności pracy w laboratorium i systematyczności. Autor opanował wiedzę teoretyczną i metody badawcze niezbędne do samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. Podjęta tematyka jest aktualna i ma potencjalne znaczenie aplikacyjne.

Biorąc pod uwagę wartość poznawczą pracy oraz zawarte w niej elementy nowości naukowej, a także dojrzały sposób interpretacji uzyskanych wyników stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa Pana mgr Arkadiusza Nowickiego odpowiada wymogom ustawowym określonym w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki, w związku z art. 179 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1669 z późn. zm.) wnioskuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie pracy doktorskiej Pana mgr Arkadiusza Nowickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Nowicki', is centered on the page.